

МИНОБРНАУКИ РОССИИ
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования
«САРАТОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ Н.Г.ЧЕРНЫШЕВСКОГО»

Кафедра общей и неорганической химии
наименование кафедры

**Синтез и свойства молекулярно-импринтированных полимеров на основе
модифицированных наночастиц оксида кремния**

АВТОРЕФЕРАТ БАКАЛАВРСКОЙ РАБОТЫ

студента (ки) 4 курса 413 группы

направления 04.03.01 «Химия»

код и наименование направления

Института химии

наименование факультета

Галиевой Яны Петровны

фамилия, имя, отчество

Научный руководитель

профессор, д.х.н., доцент

должность, уч. степень, уч. звание



дата, подпись

Н.А. Бурмистрова

инициалы, фамилия

Зав. кафедрой:

д.х.н., доцент

должность, уч. степень, уч. звание



дата, подпись

Д.Г. Черкасов

инициалы, фамилия

Саратов 2021

Введение

Контроль за качеством продуктов питания и кормов для животных является одной из важнейших задач современной аналитической химии. К группе особо опасных загрязнителей пищевых продуктов относятся микотоксины. Это продукты вторичного метаболизма плесневых грибов вида *Fusarium* относятся к группе наиболее распространенных и опасных микотоксинов, среди них дезоксиниваленол (ДОН), НТ-2 токсин, зеараленон (ZEN). Они продуцируются и накапливаются во время роста растений и загрязняют зерновые культуры при неправильном хранении сельскохозяйственного сырья и в процессе его переработки. Содержание микотоксинов в пищевых продуктах и кормах варьирует в широких пределах и может достигать сотен мкг/кг.

Попадая в организм с пищей микотоксины пагубно влияют на широкий спектр процессов жизнедеятельности, как у человека, так и у животных, в связи с чем были разработаны различные методики их обнаружения и удаления из образца. Традиционно для определения микотоксинов в различных объектах применяется высокоэффективная жидкостная хроматография с флуориметрическим или масс-спектрометрическим детектированием. Обладая неоспоримыми достоинствами, хроматографические методы длительны и требуют использования дорогого оборудования; не могут быть использованы непосредственно на месте производства и переработки продукции.

Среди возможных подходов при определении микотоксинов интерес представляет метод молекулярного импринтинга. Это шаблон на молекулярном уровне, позволяющий получать синтетические полимеры с рецепторными или каталитически активными центрами. Получение молекулярно-импринтированного полимера (МИП) на поверхности твердого носителя получило широкое распространение за счёт того, что такой импринтинг всегда будет поверхностным. Поверхностный импринтинг является одним из наиболее изученных с точки зрения понимания механизма [1] и может подходить для промышленного применения.

Целью данной работы является синтез молекулярно-импринтированного полимера, селективного к микотоксину зеараленону, на поверхности наночастиц диоксида кремния;

Для достижения поставленной цели были решены следующие задачи:

- проведен поиск и анализ литературных данных, посвященных методам определения ZEN на основе молекулярно-импринтированных полимеров;
- проведен синтез наночастиц диоксида кремния и модификация их поверхности молекулярно-импринтированными полимерами на ZEN на основе (3-аминопропил)триэтоксисилана;
- изучена возможность использования полученных МИП для извлечения ZEN на примере модельных смесей и искусственно загрязненных образцов пшеницы.

Выпускная квалификационная работа состоит из введения, обзора литературы, экспериментальной части, обсуждения результатов, вывода и списка используемых источников, включающего 47 наименований. Работа изложена на 41 листах машинописного текста, содержит 12 рисунков, 4 таблицы.

Основное содержание работы

1 Спектральные характеристики зеараленона

В качестве основного метода контроля зеараленона была использована электронная спектроскопия. Зеараленон поглощает свет в УФ области спектра, что позволяет проводить его спектральный анализ. Характерные максимумы спектра поглощения водного раствора ZEN расположены в ближней УФ области при $\lambda = 220, 267, 309$ нм.

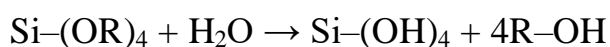
Согласно литературным данным [2] спектральные характеристики ZEN в этаноле: 236, 274, 316 нм.

2 Синтез молекулярно-импринтированных полимеров

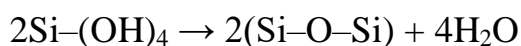
Синтез МИП на ZEN проводили в два этапа – получение наночастиц диоксида кремния и получение МИП на их поверхности.

На первом этапе протекают два основных типа реакций:

- образование силанольных групп при гидролизе TEOS



- формирование силоксановых мостиков в процессе конденсации



На втором этапе APTES взаимодействует с OH-группами наночастиц диоксида кремния с образованием кислородных мостиков. В результате поверхность наночастиц оказывается модифицирована аминогруппами, число которых можно варьировать при изменении условий процесса [3].

Добавление ZEN, выступающего в качестве молекулы-шаблона, при синтезе МИП, приводит к его нековалентному встраиванию в поверхностный слой полимера и образованию трехмерных, селективных к ZEN сайтов связывания. Синтез неимпринтированных полимеров (НИП) проводили без добавления ZEN.

3 Получение наночастиц диоксида кремния

Получения монодисперсных наночастиц диоксида кремния проводили согласно методике, описанной в [4]. Этанол, TEOS и гидроксид аммония смешивали в соотношении 8 : 0,045 : 14 М и помещали в ультразвуковую ванну (3 час). Синтез проводили при комнатной температуре.

4 Осаждение наночастиц диоксида кремния, молекулярный импринтинг

Наночастицы SiO₂ диспергировали в растворе этанола и осаждали центрифугированием. Жидкую фазу удаляли. Полученные образцы сушили под вакуумом в течение ночи.

Для получения МИП, раствор ZEN в этаноле (4 мкг/мл) в объёме 0,5 мл и 0,1 мл APTES растворяли в 2,4 мл этанола и проводили предварительную полимеризацию в течение 30 мин при комнатной температуре. Преполимеризованный раствор приливали к ранее полученным частицам и перемешивали в закрытом состоянии с помощью мешалки при комнатной температуре в течение 5 час. Образцы НИП получали по аналогичной методике, но без добавления ZEN.

После импринтинга наблюдается деформация полос поглощения у МИП. Характерные максимумы у НИП отсутствуют, что говорит об отсутствии связывания с темплатом

5 Удаление молекулы-шаблона

Полученные образцы МИП и НИП осаждали из раствора центрифугированием и отбирали аликвоты раствора для анализа ZEN методом электронной спектроскопии.

Для удаления ZEN применяли два метода:

- диализ в PBS (pH = 7,4) при комнатной температуре в течение часа.

Затем образцы осаждали и отбирали жидкую фазу.

- вымывание ZEN смесью этанол : БД в соотношении объемов 9:1. После добавления смеси к суспензии МИП/НИП проводили перемешивание в течение 30 мин, осаждение центрифугированием. Аликвоты раствора отбирали для контроля полноты вымывания ZEN методом электронной спектроскопии. Полученные образцы сушили под вакуумом в течение ночи.

Вымывание темплата путем диализа в PBS не дало необходимого результата. Изначально мутный раствор стал прозрачным, частицы не осели после центрифугирования. Отсутствие частиц МИП вероятно обусловлено их малым размером и миграцией через полупроницаемую мембрану.

Наиболее полного удаления молекулы-шаблона удалось добиться путем использования смеси этанол : БД в соотношении объемов 9:1. Установлено, что исчезновение максимумов поглощения, соответствующих ZEN, наблюдалось уже после второй обработки смесью. Это свидетельствует о десорбции темплата при выбранных условиях.

6 Экстракция ZEN на синтезированных МИП/НИП

К высушенным образцам МИП/НИП приливали 3 мл раствора ZEN в этаноле (2 мкг/мл). Спектры растворов ZEN после экстракции МИП и НИП представлены на рисунке 1. Представленные данные показывают, что ZEN при данных условиях лишь частично экстрагировался НИП. В то же время интенсивность поглощения раствора ZEN после добавления МИП ниже, чем после НИП. Изменение концентрации после экстракции на МИП равняется $6 \cdot 10^{-4}$ мг/мл при массе МИП = 3,3 мг. Этот факт может свидетельствовать о связывании ZEN частицами МИП.

Таким образом сорбционная емкость $A = 6 \cdot 10^{-4}$ (мг/мл) по формуле:

$$A = \frac{(C_0 - C_{\text{ост}}) \times V}{m}$$

Где A – величина адсорбции [мг/мл]; C_0 – начальная концентрация адсорбата [мг/мл]; $C_{\text{ост}}$ – равновесная концентрация адсорбата [мг/мл]; V – объем раствора адсорбата [мл]; m – масса сорбента [мг].

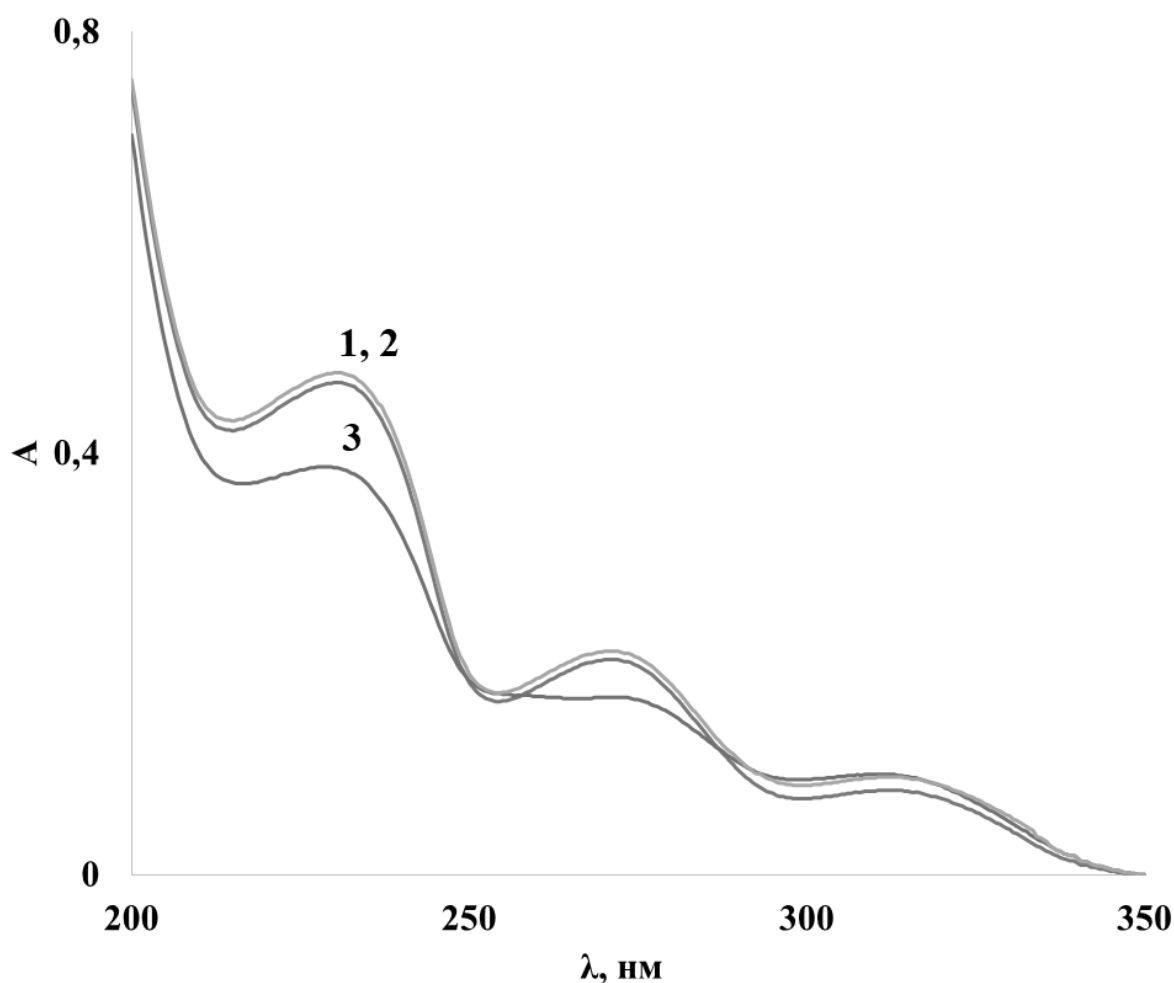


Рисунок 1 – Спектр поглощения до (1), после (2) прибавления НИП, и (3) после прибавления МИП

7 Применение синтезированных молекулярно-импринтированных полимеров для анализа реальных образцов

В работе использовали образцы очищенного зерна пшеницы, купленные на рынке г. Саратова.

Приготовление реального образца пшеницы проводили согласно методике, описанной в [5]. Образцы пшеницы измельчали в фарфоровой ступке, для проведения эксперимента отбирали частицы размером ~1 мм. 5 г образца заливали 20 мл смеси этанол / вода (80:20, об. %) и перемешивали в течение 15 мин на горизонтальном шейкере при комнатной температуре. Полученный экстракт центрифугировали и отбирали верхнюю часть.

После центрифугирования отбирали два образца супернатанта и производили “искусственное загрязнение” при двух разных уровнях:

- смешением рабочего раствора ZEN (1 мл, 4 мкг/мл в этаноле) и 1 мл экстракта;

- смешением рабочего раствора ZEN (1 мл, 4 мкг/мл в этаноле) и 1 мл экстракта, разбавленного этанолом в 14 раз.

Полученные растворы использовали для оценки работы МИП. С этой целью к высушенным образцам МИП приливали 1 мл искусственно загрязненного экстракта и перемешивали образцы с помощью мешалки в течение 30 мин. После центрифугирования отбирали надосадочную жидкость и проводили ее анализ методом спектроскопии.

Изменение концентрации для образца с разбавлением равняется $2 \cdot 10^{-4}$ мг/мл, при массе МИП = 1,1 мг. Таким образом сорбционная емкость $A = 2 \cdot 10^{-4}$ (мг/мл).

Изменение концентрации для образца без разбавления равняется $3 \cdot 10^{-3}$ мг/мл, при массе МИП = 1,2 мг. Сорбционная емкость $A = 2,5 \cdot 10^{-3}$ (мг/мл).

Эти результаты продемонстрировали, что приготовленные МИП обладают селективной способностью связывать ZEN с высокой адсорбционной способностью.

Заключение

1. Проведен анализ литературы, посвященной свойствам ZEN и методам его определения, в том числе методом молекулярного импринтинга. Установлено, что импринтинг на поверхности наночастиц диоксида кремния представляет интерес за счет отсутствия полимеризации темплата в объеме.

2. Проведен синтез наночастиц диоксида кремния и модификация их поверхности МИП на основе АРТЕS.

3. Показана возможность процесса сорбции/десорбции ZEN и оценена сорбционная емкость МИП в модельных растворах ($6 \cdot 10^{-4}$ мг/мл).

4. Показана возможность применения синтезированных МИП для определения ZEN в экстрактах злаковых культур на примере искусственно загрязненного экстракта пшеницы. Проведена оценка сорбционной емкости МИП ($2 \cdot 10^{-4}$ мг/мл).

Список используемых источников

1. Hussain M. Molecular imprinting as multidisciplinary material science: today and tomorrow //Int. J. Adv. Mater. Res. – 2015. – Т. 1. – №. 5. – С. 132-154.
2. Ахмадышин Р. А., Канарский А. В., Канарская З. А. Микотоксины-контаминанты кормов //KNRTU-KAI. – 2007. – №. 2
3. Oliveira L. F. et al. Tailored silica nanoparticles surface to increase drug load and enhance bactericidal response //J. Braz. – 2017. – Т. 28. – №. 9. – С. 1715-1724.
4. Rao K. S. et al. A novel method for synthesis of silica nanoparticles //Colloid and interface sci. – 2005. – Т. 289. – №. 1. – С. 125-131.
5. Pidenko P. et al. Imprinted proteins as a receptor for detection of zearalenone //Anal. Chim. Acta – 2018. – Т. 1040. – С. 99-104.